云 南 植 物 研 究 1996; **18** (4): 476～478
Acta Botanica Yunnanica

二种不同抗冷性水稻品种剑叶 5′–核苷酸酶的细胞化学定位 *

陈善娜 邹晓菊 梁 斌
(云南大学生物系, 昆明 650091)

THE CYTOCHEMICAL LOCATION OF 5′–NUCLEOTIDASE IN SWORD SHAPED LEAVES OF TWO DIFFERENT COLD RESISTANT VARIETIES OF RICE

CHEN Shan–Na, ZOU Xiao–Ju, LIANG Bin
(*Department of Biology, Yunnan University,* Kunming 650091)

关键词 水稻, 5′–核苷酸酶, 细胞核
Key words *Oryza sativa,* 5′–nucleotidase, Cell nucleus

云南大部分地区七、八月常阴雨连绵, 平均气温不到 20℃, 水稻经常遭受不同程度的冷害, 每年均有 20%～30%的空秕发生, 造成减产。七、八月也是云南水稻生长的孕穗期, 对低温冷害较敏感的阶段主要是花粉母细胞减数分裂前后, 此时如遇到低温（15℃～17℃以下）会造成出穗显著延迟, 颖花不孕、空秕较多等（谢庚华等, 1986）。低温冷害对苗期 5′–核苷酸酶活性的影响已有报道, 苗期该酶活性的变化与抗冷性强弱有显著相关性（潘杰等, 1992）。因此, 我们以水稻花粉母细胞减数分裂期剑叶基部叶片为材料, 研究 5′–核苷酸酶的定位, 活性变化及与抗冷性的关系。

材料与方法

采用水稻（*Oryza sativa*）强抗冷品种"丽粳 2 号", 弱抗冷品种"十和田"。分别取自在实验田中生长到花粉母细胞减数分裂期的水稻植株若干, 一部分植株置于 12±1℃, 4000 lx, 12 h／d 光照培养箱低温处理 5 d, 一部分置于 25±1℃, 4000 lx, 12 h／d 光照培养箱作为对照。分别剥取植株的幼嫩剑叶基部叶片, 切成 0.5 mm×0.5 mm 的组织块, 参照潘杰等（1992）的方法进行 5′–核苷酸酶的细胞化学反应和电镜样品的固定、脱水、包埋、切片等, 在 H–600 型透射电镜下观察和照相。

实验结果

5′–核苷酸酶的细胞化学定位及活性状况

两个品种正常处理的切片和低温处理的切片在质膜、液泡膜和细胞核上都有黑色磷酸铅沉淀（图版Ⅰ: a～h), 对照切片则没有（图版Ⅰ: i,j), 这说明正反应切片中的黑色沉淀是该酶活性的真实反映。

5′–核苷酸酶不仅定位在质膜和液泡膜上, 还定位在细胞核上, 这与潘杰等（1992）和我们在苗期的

* 云南省应用基础研究基金和云南省教委基金资助
1995–09–11 收稿, 1996–01–19 修回

结果不同①。该酶在动物细胞核上的分布已有过报道(M. 狄克松等, 1988)。我们的结果表明 5′-核苷酸酶在动、植物细胞核上的细胞化学定位具有一定的一致性。

未受低温冷害时，抗冷性强的品种剑叶基部的成熟细胞中，质膜、液泡膜和核上黑色磷酸铅沉淀颗粒大而密，颜色深（图版Ⅰ：a，b)。抗冷性弱的品种质膜和液泡膜上该酶的活性，同抗冷性强的品种的差异不明显（图版Ⅰ：a，c)；但细胞核上的沉淀颗粒明显少而稀，颜色浅（图版Ⅰ：b，d)。这说明抗冷性强弱不同的品种，细胞核上 5′-核苷酸酶的活性不同。

冷害引起的酶活性变化

低温冷害后，不论是强抗冷品种还是弱抗冷品种，质膜、液泡膜和细胞核上黑色磷酸铅沉淀都比未受冷害时明显减少（图版Ⅰ：e～h)。但抗冷性强的品种低温冷害后核上黑色磷酸铅沉淀仍多于抗冷性弱的品种（图版Ⅰ：f，h)。已有实验证明，该酶细胞化学反应产物累积的变化趋势与酶活性变化的生化测试结果一致（潘杰等，1992)。因此, 虽然两个品种冷害后 5′-核苷酸酶活性都减弱，但强抗冷品种细胞核上酶活性仍明显高于弱抗冷品种。 ,

讨　论

实验结果表明，不论是强抗冷性、还是弱抗冷性的水稻品种，在受低温冷害前后，剑叶基部的细胞核上均有 5′-核苷酸酶的分布。在水稻生长发育过程中，花粉母细胞减数分裂期剑叶伸长生长迅速，为灌浆期进行光合作用、合成有机物质的主要贡献者。这种伸长生长主要靠剑叶基部和细胞分裂来完成。5′-核苷酸酶可能在核酸的生物合成、RNA 分解及 ATP 代谢过程中起作用（简令成等，1980)。

幼苗期的细胞核上没有此酶活性的细胞化学显示(潘杰等，1992)，而剑叶基部细胞的细胞核上表现出明显的酶活性。说明同一材料在不同的发育阶段及不同组织细胞间此酶的分布及活性有区别。

无论强、弱抗冷性品种，冷害后剑叶的细胞中 5′-核苷酸酶活性都有减弱。这与幼苗期冷害后，强抗冷品种酶活性增强，弱抗冷品种酶活性减弱的结果不同，说明在不同的生育期水稻对低温冷害的敏感性不同。水稻花粉母细胞减数分裂期剑叶基部细胞，低温冷害前或后，抗冷性强的品种的 5′-核苷酸酶活性均高于抗冷性弱的品种。此酶的活性是否可作为该时期水稻抗冷性强弱的一个参考指标，值得进一步探讨。

致谢　云南省农科院中日合作育种课题蒋志农，刘吉新先生提供实验田标准抗冷性强弱的水稻材料，成都军区后勤部军事医学研究所电镜室大力协助。

参 考 文 献

谢庚华，唐锡华编著，1986. 稻作科学. 北京: 农业出版社, 109

简令成, 董合铸, 孙龙华, 1980. 冬小麦分蘖节细胞内三磷酸腺苷酶活性的细胞化学研究. 实验生物学报, **13**(2): 135

潘　杰, 孙龙华, 简令成, 1992. 不同抗冷性水稻质膜 5′-核苷酸酶活性的生理生化与细胞化学研究. 科学通报, **7:** 653

狄克松 M, 威勃 E C 著, 戚正武等译, 1988. 酶. 北京: 科学出版社, 557

①陈善娜, 邹晓菊, 梁斌, 1994. 不同抗冷性水稻品种膜系统的细胞化学及结构观察. 全国植物环境生理会议论文集汇编. 中国植物生理学会. 117.

图版Ⅰ说明

a～d.正常处理的强抗冷品种丽粳2号(a,b)和弱抗冷性品种十和田(c,d)剑叶基部细胞5′-核苷酸酶定位在质膜(Pm),液泡膜(Vm)和细胞核(N)上,并出现较高的活性。a. ×12000; b. ×10000, c. ×6000; d. ×5000

e～h.低温处理的强抗冷品种丽粳2号(e,f)和弱抗冷性品种十和田(g,h)剑叶基部细胞5′-核苷酸酶定位在质膜(Pm),液泡膜(Vm)和细胞核(N)上。但细胞核(N)上,强抗冷品种的酶活性高于弱抗冷品种(f,h)。e. ×20000; f, ×10000; g. ×6000; h. ×10000

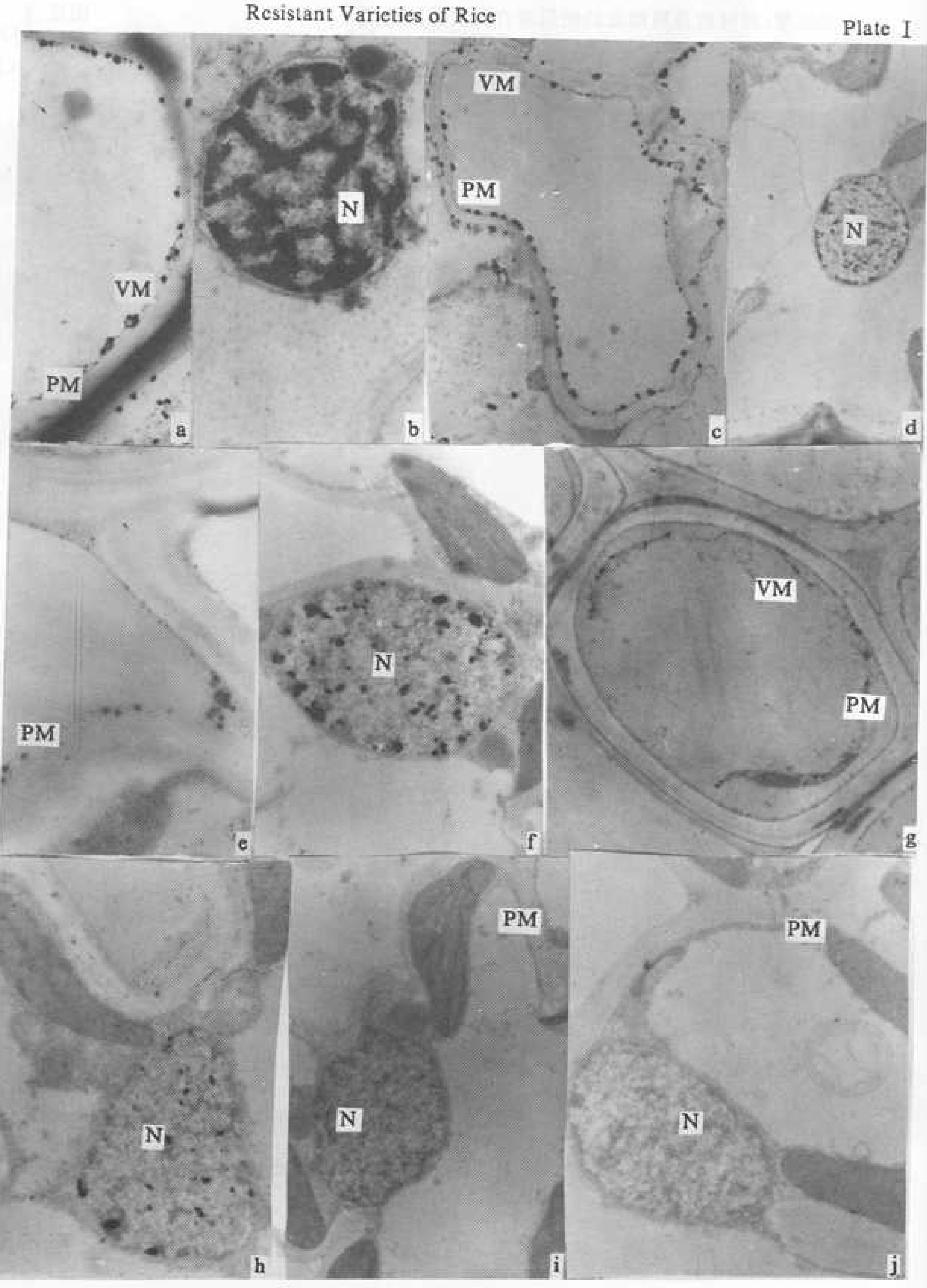
i～j.对照反应,未经低温处理的丽粳2号(i)和十和田(j)剑叶基部细胞未加反应底物5′-核苷酸酶反应液,在核上、质膜、液泡膜上没有产生磷酸铅沉淀。i, ×8000, j, ×10000

Explanation of Plate Ⅰ

a～d. In the bottom cells of sword shaped leaves of the strong cold resistance variety Ligeng 2(a,b) and the weak cold resistance variety Shihetian (c,d) after normal treament, 5′-nucleotidases were located at plasma membrane (PM), vacuole membrane(VM) and nucleus (N), and the higher activity of 5′nucleotidases was exhibited. a. ×12000; b. ×10000, c. ×6000; d. ×5000

e～h. After low temperature treament, in the bottom cells of sword shaped leaves of the strong cold resistance variety Ligeng 2 (e,f) and the weak cold resistance variety Shihetian (g,h), 5′-nucleotidases were also located at PM, VM and N. The lower activity of 5′-nucleotidases was exhibited. But the activity at N of the strong cold resistance variety was higher clearly than the activity of the weak cold resistance variety (f,h). e. ×20000, f. ×10000, f. ×6000, h. ×10000

i～j. In control reaction, in the bottom cells of sword shaped leaves of Ligeng 2 (i) and Shihetian (j) untreated, there is not sediment of lead phosphate at PM, VM and N, without reation liquid of 5′-nucleotidases as reaction substate. i. ×8000, j. ×10000



See explanation at the end of text